昆虫精细胞内中心粒附体的来源和作用

王 宗 舜　　钟 香 臣
(中国科学院动物研究所，北京 100080)

摘要 本研究应用界面铺浮和超薄切片技术，观察了东亚飞蝗 (*Locusta migratoria manilensis*) 和七星瓢虫 (*Coccinella septempunctata* L.) 精细胞内中心粒附体 (CA) 的形成和作用。结果发现，作为电子致密体的 CA 前体和原顶体颗粒出现在副核和细胞核之间区域。随后，这个主要是由约 300Å 颗粒组成的 CA 前体附着在核膜，核内、外膜加厚。在副核分化成两个线粒体衍生物或稍早些时刻，近心中心粒移向 CA 并嵌入。中心粒镶嵌到核膜上发育成基体，由此生长出轴丝来。随着精细胞的延长，CA 的形状也跟着转变和伸长。250—300Å 染色质纤维沿精细胞长纵轴连接在 CA 结构的基部。当精细胞核向长形转变时，染色质纤维解旋并结合在一起形成缎带结构。因此，可以设想 CA 是作为暂时性细胞器在组织精细胞内，染色质纤维重新组织排列和指导中心粒移向精细胞核的特定区域中起作用。

关键词　东亚飞蝗　七星瓢虫　中心粒附体　精细胞

昆虫精子形成是精细胞内各细胞器高度分化和重新形成的过程 (Baccetti, 1972; Phillips, 1970)。中心粒附体 (Centriolar Adjuct, CA) 是在精子形成过程中出现的结构，最早由 Gatenby 和 Tahmisian (1959) 发现。以后，几乎在昆虫所有的目中，昆虫的精细胞内都观察到这个细胞器。然而，人们对这一结构的来源、性质和作用的了解并不多。有关这方面的研究报告观点也不完全一致 (Breland 等，1966; Cantacuzene, 1970: Szöllösi, 1975)。

本文应用界面铺浮技术和超薄切片技术，对东亚飞蝗 (*Locusta migratoria manilensis*) 与七星瓢虫 (*Coccinella septempunctata* L.) 精细胞中心粒附体的整体和细微结构进行了观察，对其来源和作用有了进一步的认识。

材 料 和 方 法

1. 材料

东亚飞蝗　从田间采回飞蝗卵块，孵化后蝗蝻在实验室养虫箱内饲养 (长日照; 30℃)，喂玉米叶或小麦苗。取 4—5 龄若虫和成虫睾丸为实验材料。

七星瓢虫　从麦田或油菜地采回七星瓢虫蛹，羽化后以蚜虫喂养，取成虫睾丸为实验材料。

2. 水面铺浮技术制作整装片

将育精囊内精细胞放在细玻璃棒末端，轻轻研磨，然后将带有细胞的玻璃棒末端触及水槽 (14 × 4.5 × 1 cm) 液面，水槽水面大小是可调的。用预先喷好金属的 Formar 膜铜网捞取铺浮的精细胞，在 2% 醋酸双氧铀水溶液内染色 10—15 分钟，在蒸馏水中漂洗，

本文于 1992 年 1 月收到。

乙醇逐级脱水，最后浸入醋酸正戊酯两次共 20 分钟，空气干燥。

3. 超薄切片制作

按照作者前文(1982)描述方法进行。

从 5 龄若虫和成虫摘取睾丸，剥离出精小管放进 4℃ 的 4% 戊二醛固定液（pH7.4）内固定 2—4 小时，然后用 0.1mol/L 磷酸缓冲液浸洗过夜，再移入 1% 锇酸固定液内浸泡 1—2 小时，用 4℃ 蒸馏水冲洗数次，经梯度酒精进行脱水，用环氧树脂 Epon 812 包埋。LKB-I 型超薄切片机制片，以 2% 醋酸氧铀及柠檬酸铅进行染色。在 H-300 和 JEM-100CX 电子显微镜下进行观察。

结 果

1. 中心粒附体的来源和性质

作为中心粒附体（CA）的前体，原中心粒附体颗粒（CAP）出现在飞蝗早期精细胞的副核（Ne）区域(图版 I:1)，在这个时期原顶体颗粒（PG）也已经形成，但尚未移向细胞核前极(图版 I:2)。接着，球形原中心粒附体颗粒附着于副核区域细胞核后极的核膜上，两膜融合后形成中心粒附体复合体(图版 I:2、3、4)，核膜显著加厚(图版 I:5、6a)。与此同时，中心粒(C)向中心粒附体运动(图版 I:3、4)，最终插入中心粒附体附着在核膜上(图版 I:5) 并形成基体(BB)(图版 I:6a)，进一步从基体远心端生长出轴丝来(图版 I:6b)。

中心粒附体的大小和形状是随着精细胞的发育而变化的。起初，球形原中心粒附体颗粒(图版 II:7)附着在核膜上，之后发育成圆柱体(直径 0.95 μm、高 0.65 μm)(图版 II:8、9)，随着发育，精细胞核延长，中心粒附体也伸长(图版 II:10、11)。从图版 I:5、6a 和图版 II:10 可以清楚地看到，中心粒附体是由约 300 Å 颗粒构成的暂时性细胞器。

图版 I:5 显示出两个中心粒附体同时附着在一个精细胞核上，这就使它具有可能产生双鞭毛异常精子。

2. 中心粒附体的作用

(1) 在轴丝形成中的作用

精子尾部的形成，轴丝的发生是关键。轴丝是从基体生长出来的，基体起源于中心粒。发生过程是中心粒—基体—轴丝(王宗舜等，1978)。

中心粒是如何定向附着于精细胞核上？在东亚飞蝗早期精细胞内，我们观察到中心粒附体在中心粒连接到细胞核上所起的定位作用。首先是原中心粒附体颗粒出现在副核(Ne)和细胞核之间(图版 I:1)，进而附着在核膜上，为中心粒嵌入选择了固定的位点，然后中心粒向中心粒附体移动，最终插入已经定好位置的中心粒附体，并形成基体(图版 I:4、6a)，从基体生长出轴丝来(图版 I:6b，图版 II:8、9)。

(2) 在染色质组织排列中的作用

图版 II:9—13 显示了东亚飞蝗和七星瓢虫精细胞核内 250—300 Å 染色质纤维是沿着精细胞的长轴粘着在中心粒附体复合体上。可以看出在精细胞内染色体的组织排列中，中心粒附体是起着组织者的作用。同时可以认为，在这些精细胞内，染色体的排列方式是有规则的纵向染色重叠装配，共同附着中心粒附体而不是染色体头尾相接的排列方式。

讨　　论

起初应用光学显微镜观察到的中心粒附体实体（Nath, 1956）在电子显微镜下进一步确定无疑。关于中心粒附体（CA）的起源问题，在哺乳动物精子发生过程中，CA这个暂时性结构的来源是很清楚的，起源于近心中心粒（Fawcett, 1972)。然而，有关昆虫精细胞CA来源的研究报告很少，意见也不一致。Gatenby 和 Tahmisian（1959）认为地蟋精细胞内的 CA 不是近心中心粒分泌的，而是颗粒聚集形成的 CA，包围着中心粒。Cantacuzéne（1970）对 CA 形态演变作过比较仔细地观察，他认为昆虫精细胞 CA 的合成可能是中心粒诱导的。我们观察结果认为，东亚飞蝗精细胞内中心粒附体（CA）不是起源中心粒，而是蛋白质颗粒先聚集形成原中心粒附体颗粒（CAP)，随后，该颗粒移到副核和细胞核之间区域并附着在细胞核上构成中心粒附体复合体；与此同时，中心粒向中心粒附体运动并嵌入，基体形成。

雄性生殖细胞分化到什么阶段轴丝才开始形成？王宗舜等(1978)观察到家蚕初级精母细胞分裂前期，中心粒已经发育成基体-轴丝结构；一些蚊虫精细胞鞭毛形成也相当早，开始于第二次减数分裂后期末（Breland 等，1966、1968)；Friedländer 等（1971）和 Warner（1971）在精细胞内只观察到单个中心粒，在精细胞早期阶段基体已经并置到核膜上，并被中心粒附体包围着。作者观察到东亚飞蝗早期精细胞阶段只有一个中心粒嵌入已附着于核膜上的中心粒附体（CA)，发育成基体，形成基体-轴丝结构。

关于中心粒附体在精子形成中的作用几乎都是推论的。普遍认为它起着把尾部连接到细胞核上的机械性作用。我们观察的结果确认中心粒附体在染色质重新组织排列和帮助中心粒发育成基体-轴丝结构中起重要作用。

参　考　文　献

王宗舜、钟香臣、郭郛　1978　家蚕精母细胞内基体和鞭毛的电镜观察。昆虫学报 **21**(4): 453—4。

钟香臣、王宗舜、郭郛　1982　昆虫精子发生的电镜观察 I. 蝗虫精细胞核的演变。动物学集刊 **2**: 157—61。

Baccetti, B. 1972 Insect sperm cells. *Adv. Insect Physiol.* **9**:315—97.

Breland, O. P. et al. 1966 Certain aspects of the centriole adjuct, spermiogenesis, and the mature sperm of insects. *Can. J. Genet. Cytol.* 8: 759—73.

Breland, O.P. et al. 1968 Centrioles in the spermatids of insects. *Ann. Ent. Soc. Am.* **61**: 1037—9.

Cantacuzéne, A.M. 1970 L'annexe centriolaire du spermatozoide des insectes. in Spermatologia Comparata (ed, Baccetti, B) pp. 553—564. Academia Nazionale dei Lincei, Roma.

Fawcett, D.W. 1972 Observations on cell differentiation and organelle continuity in spermatogenesis. in The Genetics of the Spermatozoon. pp. 37—68. (eds) Beatty, R.A. and Gluecksohn-Waelsch, S. Edinburgh and New York.

Friedländer, M. & J. Wahrman 1971 The number of centriole in insect sperm: A study in two kinds of differentiating silkworm spermatids. *J. Morphol.* **134**: 383—98.

Gatenby, J.B. & T.N. Tahmisian 1959 Centriole adjunct, centrioles, mitochondria and ergastoplasm in Orthopteran spermatogenesis. An electron microscope study. *La Cellule* **60**: 103—34.

Nath, V. 1956 Cytology of spermatogenesis. *Intern. Rev. Cytol.* **5**: 395—453.

Phillips, D.M. 1970 Insect sperm: their structure and morphogenesis. *J. Cell Biol.* **44**: 243—77.

Szöllösi, A. 1975 Electron microscope study of spermiogenesis in *Locusta migratoria* (Insect Orthoptera). *J. Ultrastruc. Res.* **50**: 322—46.

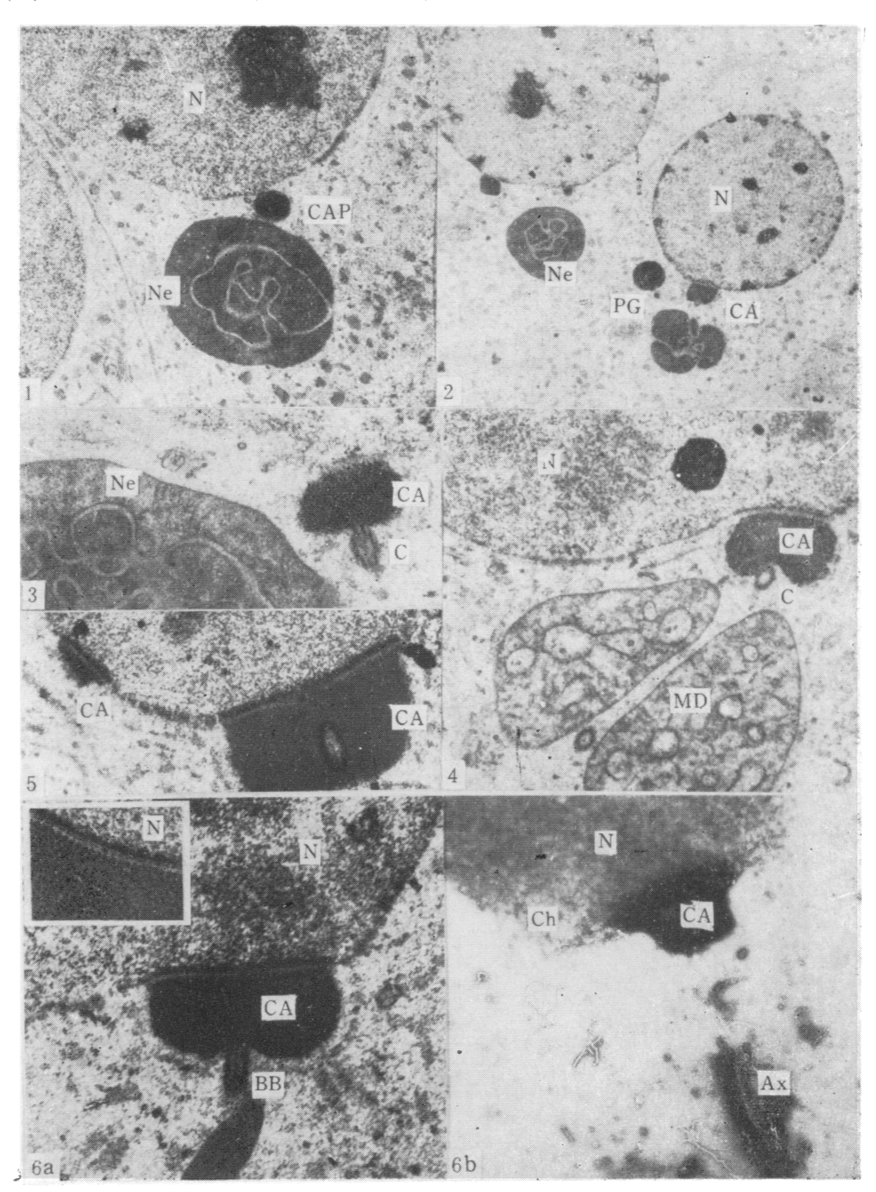
Warner, F.D. 1971 Spermatid differentiation in the Blowfly *Sarcophaga bullata* with particular reference to flagellar morphogenesis. *J. Ultrastruc. Res.* **35**: 210—32.

ORIGIN AND FUNCTION OF THE CENTRIOLE ADJUNCT IN SPERMATIDS OF INSECTS

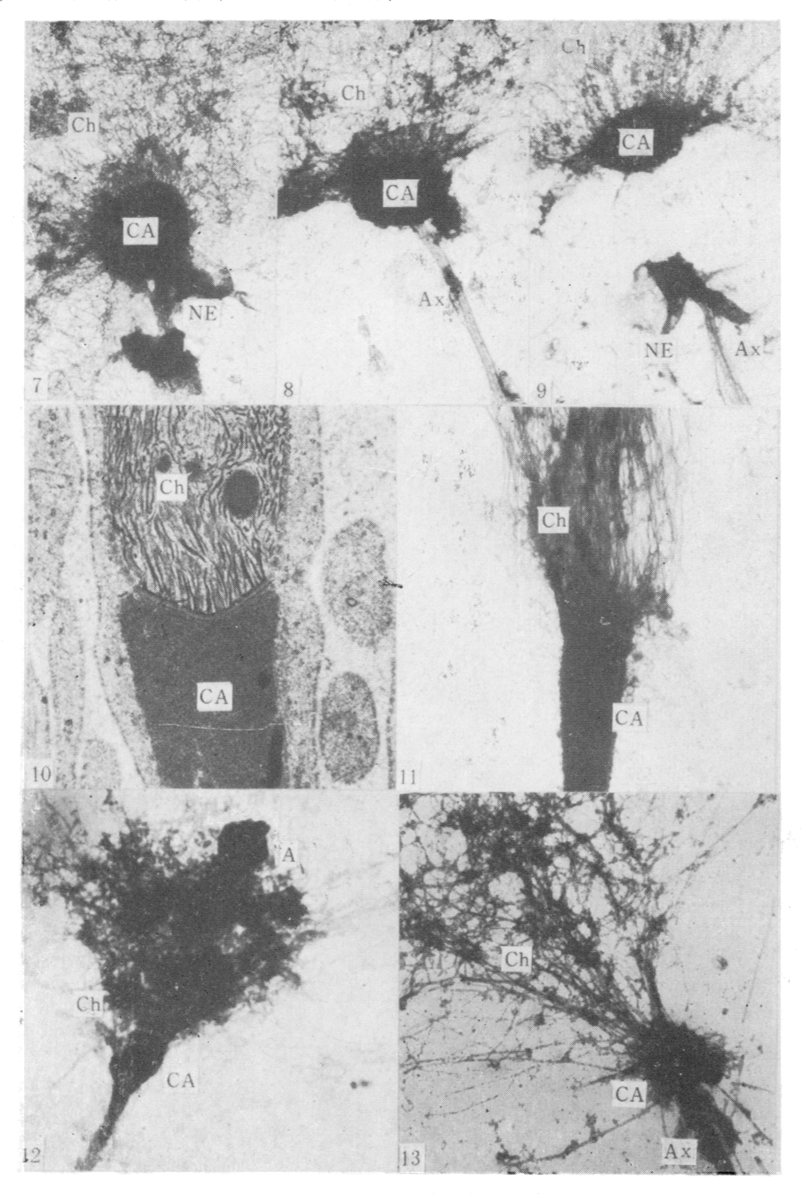
WANG ZONG-SHUN ZHONG XIANG-CHEN
(*Institute of Zoology, Academia Sinica, Beijing* 100080)

The formation and function of centriole adjunct (CA) in spermatids of *Locusta migratoria* and *Coccinella septempunctata* are studied by electron microscopy with ultra-thin section and water spreading techniques. It is found that the CA is an electron dense body and the proacrosomal granule appear in the region between the nucleus and the nebenkern. Later, the pre-centriole adjunct which mainly consists of 300 Å granules is attached to the nuclear membrane, of which the inner and outer components then become thickened. As the nebenkern differentiates into two mitochondrial derivatives or a bit earlier, the proximal centriole migrates to the CA and is finally surrounded by the CA. As a basal body it is anchored on the nuclear envelope and the axoneme originates from it. Following the spermatid elongation, the shape of CA is progressively transformed and extended. The 250—300 Å chromatin fibers along the longitudinal axis of the spermatid are attached to the base of CA structure. As spermatid nucleus elongates, the chromatin fibers are unwound and join together to form ribbon structure. It is assumed that the CA is a transient organelle and its role is to organize the rearragement of chromatin in the spermatid and to direct the migration of the centriole to the nuclear region from the place where the flagellum extends.

Key words *Locusta migratoria manilensis*——*Coccinella septempunctata*——centriole adjunct——spermatid



1.东亚飞蝗早期精细胞。示原中心粒附体颗粒（CAP）、细胞核（N）和副核（Ne）。×15000 2.东亚飞蝗早期精细胞。示圆形细胞核(N)、副核（Ne)、原顶体颗粒（PG）和中心粒附体（CA)。×6500 3.示副核(Ne)、中心粒附体（CA）和中心粒（C）的关系。×23000 4.示线粒体衍生物（MD)、中心粒附体（CA)和中心粒(C)。×21000 5.示一个精细胞核附着两个中心粒附体(CA)。×23000 6a.东亚飞蝗精细胞。示细胞核（N)、圆柱状中心粒附体（CA）和形成的基体（BB)。×21000 插图是中心粒附体复合体的放大。×32000 6b.东亚飞蝗精细胞整装片。示椭圆形细胞核（N）内染色质（Ch)、圆柱体状中心粒附体（CA）和轴丝（Ax)。×7000



7.东亚飞蝗早期精细胞电镜整装片。示球形中心粒附体（CA）和细胞核染色质（Ch）。×16000　8.东亚飞蝗精细胞整装片。示椭圆形中心粒附体（CA）、轴丝（Ax）和染色质纤维（Ch）。×18000　9.东亚飞蝗精细胞整装片。示圆柱体状中心粒附体（CA）、轴丝（Ax）和染色质纤维（Ch）。×14000　10.东亚飞蝗伸长精细胞电镜切片。示延长中心粒附体（CA）和纵向排列染色质纤维（Ch）。×17000　11.东亚飞蝗伸长精细胞整装片。示延长中心粒附体（CA）和相连接的染色质纤维（Ch）。×20000　12 和 13.七星瓢虫精细胞电镜整装片。示顶体颗粒（A）、染色质纤维（Ch）连接在中心粒附体（CA）上和轴丝（Ax）。图 12　×16000，图 13　×20000